动　物　学　研　究　2012，Apr. 33(2): 127−132　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI：10.3724/SP.J.1141.2012.02127

荒漠沙蜥遗传多样性的地理变异

刘昌景, 赵　伟, 周　蓉, 刘迺发*

（兰州大学 生命科学学院动物学研究所, 甘肃 兰州　730000）

摘要：荒漠沙蜥(*Phrynocephalus przewalskii*)是一种进化地位至今存在争议的沙漠蜥蜴, 该文基于 12 个不同地理种群 119 号荒漠沙蜥样本线粒体基因组 ND2 序列, 在分析其系统进化历史的同时, 研究了不同环境因素对其遗传多样性的影响。结果发现, 12 个地理种群聚类成 3 个明显的分枝, 变色沙蜥(*P. versicolor*)和 A 枝处于与 B、C 两枝并列的位置。所调查种群的遗传多样性存在显著的地理变异, 分析显示纬度、降雨和降雨变异对种群的遗传多样性都存在影响：随纬度升高、降雨增加, 或降雨变异增加, 种群遗传多样性均有下降趋势。推测纬度可能通过影响降雨和降雨变异对遗传多样性产生作用。

关键词：荒漠沙蜥; 系统进化分析; 遗传多样性; 环境因素
中图分类号：Q959.62; Q349.1; Q951.3　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2012)02-0127-06

Phylogeny and genetic diversity of *Phrynocephalus przewalskii*

LIU Chang-Jing, ZHAO Wei, ZHOU Rong, LIU Nai-Fa*

(*Institute of Zoology, School of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou Gansu*　730000)

Abstract: *Phrynocephalus przewalskii* is one kind of lizards inhabiting inclusively in the desert that has controversial viewpoints on its phylogeny. Based on mitochondrial ND2 gene of 119 samples from 12 geographic populations, we analyzed the effects of environmental factors on the variation of genetic diversity, as well as its relationship to *P. versicolor*. The results showed that these populations clustered into three major lineages, with *P. versicolor* embedded within one lineage. The twelve populations had great genetic diversity variation, which was tightly linked with local altitude, annual precipitation, and variation of annual precipitation. High latitudes, increased annual precipitation and great variation in annual precipitations may all have resulted in the decrease of genetic diversity. It thus assumed that altitude can change the genetic diversity of different geographic populations of *P. przewalskii* resulting from the effects of different local annual precipitation.

Key words: *Phrynocephalus przewalskii*; Phylogenetic analysis; Genetic diversity; Environmental factor

生物在进化过程中，其表型特征受到遗传基因和环境因素的共同作用。在自然选择作用下，个体遗传型是表型进化的基础，而环境因素是表型分化的原因。研究表明，尽管表型进化与分子进化的速率不同，但自然选择对某特定表型的偏好经常伴随着该表型对应的基因型发生频率上的改变(Bruna et al, 1996)。许多生态遗传学上的经典研究，如白桦尺蛾(*Biston betularia*)的“工业黑化”与其表型的选择逆转；深红虎蛾(*Panaxia dominula*)的平衡多态性和生态因素对蜗牛(*Fruticicolidae* spp.)颜色变化的影响(Merrell, 1981)，它们已经为环境因素可以通过影响个体表型进而影响基因型频率的观点提供了经验上的证据。在过去的 20 年里，分子遗传标记的快速发展，使得直接对基因型的地理变异进行研究成为可能。同一物种生活在不同环境下的种群，遗传多样性存在明显地理变异，而且这种变异与地理纬度、气温及降水等环境因子存在紧密联系(Bernatchez & Wilson, 1998; Huang et al, 2005, 2007; Jin & Liu, 2008; Randi & Alkon, 1994)。对同一物种不同地理种群进行遗传多样性变异的研究，能够为生物多样性进化理论提供重要的验证。

对特定物种进行种群遗传学研究过程中，往往

收稿日期：2011-12-15；接受日期：2012-02-15
基金项目：国家自然科学基金资助项目(41071031)
*通信作者(Corresponding author)，E-mail: naifaliu@sohu.com

受到近缘种、伴生种或隐种的干扰。由于源自同一祖先的不同物种，其表型差异更可能起源于祖先之间的表型差异，而不是环境因素作用的结果(Harvey et al, 1995)。因此，明确所研究物种的系统分类地位是种群遗传学研究需要首先解决的难题。目前我们所熟知的物种分类地位的确定大多是基于传统分类方法，这种分类方法完全以物种的表型特征作为依据。由于表型特征在进化过程中受到了自然选择的洗礼，不能完全反应物种间的亲缘度。因此，以中性分子标记为分类依据的分子系统学越来越受到分类学家的青睐(Hey, 2001)。

荒漠沙蜥(*Phrynocephalus przewalskii*)隶属于蜥蜴目鬣蜥科沙蜥属。它是栖息于荒漠或半荒漠地区的一种蜥蜴，广泛分布于我国北部及蒙古的荒漠地区。由于其表型特征变化多样，明显表现出适应各种荒漠生活的特征。因此，它为研究同一物种不同种群遗传多样性的地理变异提供了很好的材料。然而，当前荒漠沙蜥的分类地位还存在广泛争议，主要表现为与变色沙蜥(*Phrynocephalus versicolor*)和草原沙蜥(*Phrynocephalus frontalis*)的亲缘关系不甚明确。这 3 种蜥蜴在分布区上有较大重叠。最早，Zhao(1979)和 Zhao et al(1999)根据形态学特征将这 3 种蜥蜴划分为 3 个独立种。Wang & Wang (1993)基于形态特征对分布在腾格里沙漠的 3 种沙蜥分析认为：同一物种不同地理种群可能不是连续的，尽管它们形态上还是相似的，这种分布格局起因于青藏高原隆升引发的干旱化，而与黄河形成无关。然而，近年来基于线粒体分子标记的系统学研究推翻了这种分类结果。例如, Pang et al (2003)基于线粒体(12S rRNA, 16S rRNA，细胞色素 *b* 和 ND4-tRNA^{LEU})基因的分析结果表明，草原沙蜥、变色沙蜥和荒漠沙蜥聚类成同一个枝系，其分类地位不甚明确。Wang & Fu(2004)分析认为：3 种沙蜥并未形成相互独立的种，而是依据地理分布形成东部、西北和西南 3 枝。分布在腾格里沙漠、鄂尔多斯高原及更东的种群可以命名为荒漠沙蜥(*P. przewalskii*)，而分布在西北地区的种群是变色沙蜥(*P. versicolor*)，西南部的可能是一个新种，称为“新荒漠沙蜥”(*P. frontalis*)。Gozdzik & Fu (2009)对“新荒漠沙蜥”的进一步研究发现，线粒体数据支持将该种分成两个独立枝，而形态和核基因的数据支持将其列为一个独立枝。这些研究表明，荒漠沙蜥和变色沙蜥及草原沙蜥的分类关系还没有达成一致的结论。在研究荒漠沙蜥不同地理种群遗传变异时需要排除另外两种蜥蜴的干扰。

在本研究中，我们首先应用分子系统学方法对 3 种沙漠蜥蜴——荒漠沙蜥、草原沙蜥和变色沙蜥的系统进化关系进行了分析，并与已发表的资料进行了比对以检验一致性。接下来采集荒漠沙蜥采样地的环境因子，包括：经纬度、海拔、年均温、年均降雨量、年均温变异系数和年降雨量，探讨环境因子对不同荒漠沙蜥种群遗传多样性的影响。

1 材料和方法

1.1 研究地点和野外采样

为了避免采样过程中受到变色沙蜥和草原沙蜥的干扰，我们的采样地点集中在荒漠沙蜥分布区域的东部，包括巴丹吉林沙漠、腾格里沙漠，以及河西走廊东段。在三个研究区域选取了 12 个不同的地理种群(图 1)。各地区详细的环境数据见表 1，一部分数据为采样时测量，包括经纬度、海拔；其余从国家气象数据共享服务网获取，包括过去 30 年间年均温和年均降雨量。在这 12 个不同的地理种群共采集到 119 号样本。样本采集后测量身体参数后处死，然后浸泡在酒精中，常温保存。

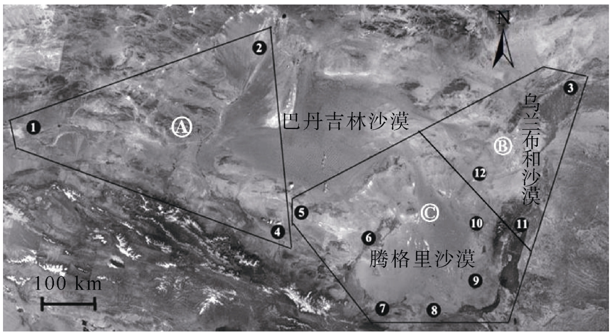

图 1 荒漠沙蜥取样图与系统发生分支图
Fig. 1 The sites of sampled populations of *Phrynocephalus przewalskii*

黑圆点：取样地点；数字：种群编号与表 1 对应；多边形框：分支。
Site names are listed in Tab. 1. The boxes represent three branches.

1.2 分子生物学实验

选取动物肝脏作为实验材料，每个样本取 100 mg。总 DNA 按照传统酚-氯仿抽提法提取(Sambrook & Russell, 2001), DNA 用 200 µL TE 缓冲液溶解，并用紫外分光光度计检测终浓度。两条线粒体基因 ND2 的 PCR 引物 H5617b/L5002(Macey & Schulte, 1998)用来进行扩增实验。PCR 反应体系：50 µL 反应液中含 10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.3;

表 1　12 个荒漠沙蜥地理种群所在地点气候与环境因子

Tab. 1　Environmental factors at twelve sample locations

编号 No.	采样地 Site	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Altitude	年均温 AAT (℃)	年均温变异系数 VCT	年均降雨量 AAR (mm)	年均降雨量变异系数 VCR
1	安西 (AX)	96. 05	40. 18	1359	9. 2±0. 1	0. 068	49. 2±2. 6	0. 292
2	额济纳旗 (EJNQ)	101. 02	41. 86	928	9. 4±0. 1	0. 077	32. 9±3. 3	0. 552
3	乌拉特后旗 (WLTHQ)	108. 51	41. 54	1262	7. 2±0. 1	0. 104	136. 9±10. 6	0. 343
4	山丹 (SD)	101. 15	38. 78	1789	6. 9±0. 7	0. 099	204. 2±51. 4	0. 388
5	阿拉善右旗 (ALSYQ)	101. 66	39. 22	1491	9. 1±0. 6	0. 068	120. 5±29. 8	0. 247
6	民勤 (MQ)	102. 99	38. 85	1369	8. 7±0. 6	0. 075	113. 8±30. 3	0. 266
7	大靖 (DJ)	103. 42	37. 49	1886	6. 5±0. 8	0. 120	172. 8±33. 1	0. 192
8	甘塘 (GT)	104. 5	37. 47	1614	7. 6±0. 7	0. 096	175. 0±32. 7	0. 187
9	栾井 (LJ)	105. 37	37. 97	1336	8. 7±0. 8	0. 089	183. 2±31. 5	0. 172
10	阿拉善左旗 (ALSZQ)	105. 63	38. 85	1448	9. 1±0. 7	0. 081	212. 4±52. 8	0. 248
11	平罗 (PL)	108. 72	38. 79	1090	9. 4±0. 1	0. 070	101. 7±6. 2	0. 335
12	吉兰泰 (JLT)	105. 74	39. 71	1015	9. 0±0. 1	0. 077	170. 9±9. 2	0. 295

AAT：年均温 Average Annual Temperature; VCT：年均温变异系数 Variation Coefficient of Temperature; AAR：年均降雨量 Average Annual Rainfall; VCR：年均降雨量变异系数 Variation Coefficient of Rainfall。

50 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L $MgCl_2$; Taq 酶 1U; 四种 dNTP 各 150 mmol/L; 两引物各 10 pmol/L; DNA 模板约 100 ng。PCR 反应程序：95 ℃预变性 4 min, 35 个循环(94 ℃变性 50 s, 48 ℃退火 45 s, 72 ℃延伸 50 s), 最后 72 ℃延伸 10 min（PE9700 型 PCR 仪)。1.0%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。线粒体 ND2 基因序列由上海生工生物工程公司进行双向测序。每个样本双向测序结果用 CONTIG 软件进行拼接，序列的排列和剪切由 Clustal X 软件完成(Thompson et al, 1997)。

1.3　遗传多样性分析

种群的遗传多样性，包括单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π)用软件 DNASP(5.0 版, Librado & Rozas, 2009)来完成。MrBayesian 系统发生分析用 MrBayes 3.1.2 软件(Huelsenbeck & Ronquist, 2001)进行。用青海沙蜥(*Phrynocephalus valangalii*)、贵德沙蜥(*Phrynocephalus valangalii*)和变色沙蜥作为外群。用 MrModeltest(Nylander, 2004)进行模型检测，用 MDIV 计算分歧时间，采用的进化速率为 0.0156 substitutions/site/Ma。用 ARELEQUIN 软件(3.1 版)进行 AMOVA 分析。

1.4　统计分析

我们将年均温和年降雨量的变异系数作为统计分析中的环境变量(表 1)。 由于气候因子的绝对值及其稳定性可能同时与遗传多样性相关(Huang et al, 2005, 2007)，故采用偏相关分析法控制其中一项(如绝对值)分析遗传多样性与另一项(如变异性)的关系。统计分析过程用软件 SPSS(16.0 版)来完成，所有提供的数据用 Mean±*SE* 来表示，显著性水平设置为 P=0.05。在进行统计分析前，连续型变量首先进行正态性和方差齐性检验，对于不满足正态性和方差齐性的数据用非参数检验的统计方法。

2　结　果

2.1　系统发育

文中测定的 119 条序列 GenBank 登录号为：JQ688119-JQ688237。在 119 号荒漠沙蜥线粒体 ND2 基因序列中总共鉴定出 37 个单倍型。每个地理种群平均有 9.8 个(±3.9, 2～15, n=12)。安西种群单倍型数目最少(2 个)，山丹种群单倍型数据最多(15 个)。基于 37 个线粒体单倍型所做的 Bayesian 系统树显示，12 个地理种群分成三个支持率非常高的枝系(A、B 和 C，图 2)。其中 A 枝处于巴丹吉林沙漠的西边，主要包括额济纳旗、安西和山丹 3 个种群; B 枝处于乌兰布和沙漠周边，包括吉兰泰、平罗和乌拉特后旗种群; C 枝处于采样的南部，包括阿拉善左旗和右旗、民勤、大靖、甘塘和栾井。AMOVA 的结果(表 2)显示，大部分单倍型变异都存在于与这 3 个地理分支相对应的 3 个地理群组之间，而且地理群组间的遗传分化极显著。

Midv 计算分析表明，A 枝与 B、C 两枝的分歧时间约为 0.797 Ma 前，B 枝与 C 枝的分歧时间为 0.618 Ma 前。一个很明显的结果是变色沙蜥和荒漠沙蜥的 A 枝聚类到一起，它们处于与 B、C 两枝并列的位置上，说明变色沙蜥和荒漠沙蜥在系统进化上并没有完全达到独立种的水平。另外，我们采集

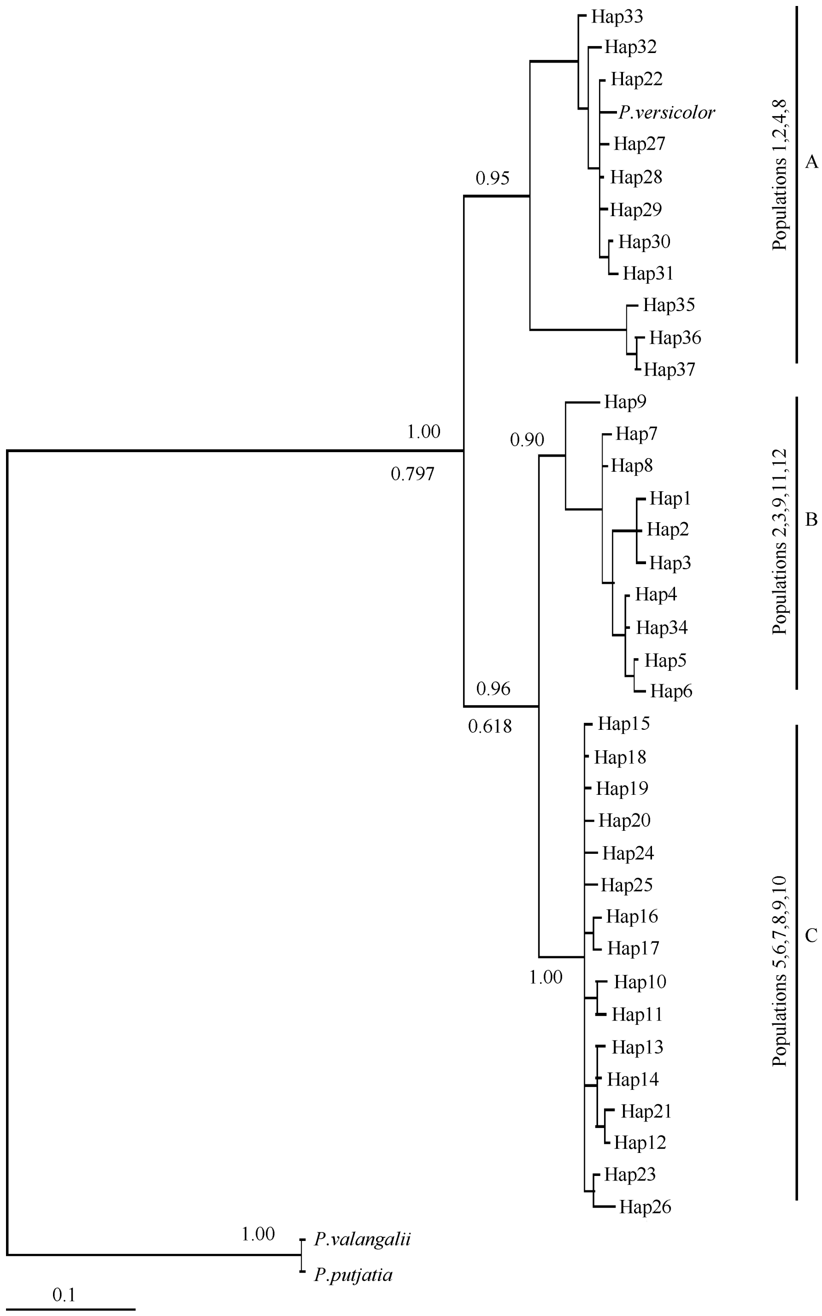

图 2 根据 37 个单倍型 616 个碱基的 mtDNA 序列构建的荒漠沙蜥贝叶斯进化树

Fig. 2 Bayesian phylogenetic tree for 37 haplotypes using a 616 base pair fragment of the mitochondrial DNA of *Phrynocephalus przewalskii*

分支节点上方：贝叶斯树分歧置信值；分支节点下方数据：估算的分歧时间(Ma)。

Values above braches represent Bayesian bootstrap values, values under braches represent divergence time.

到的荒漠沙蜥样本和两个外群都处于并列位置，表明我们采集到的样本可以视为同一个种，满足了对同一物种不同种群的遗传多样性进行研究的前提。

2.2 遗传多样性的地理变异

荒漠沙蜥各地理种群线粒体DNA单倍型数目、单倍型多样性和核苷酸多样性见表 3。每个采样点样本量和单倍型数目具有显著的正相关性(R^2=0.725, n=12, P=0.008)，表明各地理种群单倍型数目明显受到样本量的影响；而单倍型多样性(R^2=0.0.26, n=12, P=0.437)和核苷酸多样性(R^2=0.08, n=12, P=0.824)不受样本量的影响，说明可以用单倍型多样性和核苷酸多样性来表示该地理种群的遗传多样性高低。

表 2　ND2 部分序列分子变异分析(AMOVA)结果

Tab. 2　Analysis of molecular variance (AMOVA) of *Phrynocephalus przewalskii* based on ND2 partial sequences

变异来源 Source of variations	变异组成 Variance Components	变异百分比 Percentage of variation	P 值 P-value	固定指数 (99%IC) Fixation Indices
地理群组间 Among groups	6. 199	51. 00	0. 000	F_{CT}=0. 510
地理种群间 Among populations within groups	3. 260	26. 81	0. 000	F_{SC}=0. 547
种群内 Within populations	2. 697	22. 19	0. 000	F_{ST}=0. 778

表 3　荒漠沙蜥不同种群的单倍型多样性和核苷酸多样性

Tab. 3　Haplotype and nucleotide diversities of *Phrynocephalus przewalskii* from different populations

编号 No.	采样地 Site	样本量 Sample Size	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity
1	安西(AX)	2		
2	额济纳旗 (EJNQ)	11	0. 491	0. 00304
3	乌拉特后旗 (WLTHQ)	10	0. 200	0. 00097
4	山丹(SD)	15	0. 638	0. 00139
5	阿拉善右旗 (ALSYQ)	7	0. 571	0. 00835
6	民勤(MQ)	5	0. 400	0. 00260
7	大靖(DJ)	14	0. 758	0. 00212
8	甘塘(GT)	13	0. 795	0. 00458
9	栾井(LJ)	13	0. 833	0. 02380
10	阿拉善左旗 (ALSZQ)	11	0. 182	0. 00089
11	平罗(LP)	10	0. 556	0. 00451
12	吉兰泰(JLT)	7	0. 524	0. 00835

Pearson 相关分析结果显示，在经纬度和海拔与种群的核苷酸多样性均无显著相关性；仅纬度与种群的单倍型多样性有显著负相关(R^2=0.630, n=12, P=0.038)。偏相关分析表明年均温、温度变异或年均降雨、降雨变异均对单倍型多样性或核苷酸多样性无显著影响；但遗传多样性有随降雨或降雨变异性增加而下降的趋势(表 4)。

表 4　荒漠沙蜥遗传多样性和环境因素的关系

Tab. 4　The relationship coefficients between genetic diversity and environmental factors

	Longitude	Latitude	Altitude	AAT(℃)	VCT	AAR(mm)	VCR
h	–0.287	–0.618	0.370	–0.097	–0.010	–0.249	–0.413
π	0.098	–0.309	–0.108	0.240	0.163	–0.284	–0.465

当仅考虑“新荒漠沙蜥”种内，即 B 和 C 支时，偏相关表明单倍型多样性与降雨变异系数有显著负相关关系(R^2=0.743, P=0.035)；而无论温度或温度变异仍与遗传多样性无关。纬度依然显示与单倍型多样性负相关，并且几乎达到显著水平(R^2=0.658, P=0.054)。

3　讨　论

一般认为种群遗传多样性是在不断的适应环境和进化中形成的，是研究生物与环境相适应的重要内容(Merrell, 1981)。对适应于局部环境的个体的自然选择就会导致地理种群间的遗传分化。气候因子是导致生物进化的重要因子，其中温度和降水是影响陆生脊椎动物进化的重要生态因子。Nevo(1981)发现，斑鬣蜥(*Agama stellio*)的遗传多样性与降水量相关，其次是温度; Jin & Liu(2008)则发现，青海沙蜥的遗传多样性与降水量负相关，与温度正相关。蜥蜴作为外温动物，温度和降雨对其生存有重要影响是显而易见的，但是也有研究表明温度会对内温动物的遗传多样性有重要影响(如石鸡, Huang et al, 2005)。荒漠沙蜥的遗传多样性存在显著的地理变异，但多样性与温度和温度变异均无显著相关，且相关系数较低。与分布在高海拔的青海沙蜥不同，荒漠沙蜥分布在低海拔荒漠中，温度往往高于其生理极限，故无论是年均温度还是温度变异性对荒漠沙蜥的影响应该不会特别明显。

在干旱、半干旱区，降雨往往成为驱动和限制物种生命活动的重要因子(Noy-Meir, 1973)。Jin et al (2008) 对青海沙蜥的研究表明，青海沙蜥遗传多样性跟降水显著负相关，并认为只有少数单倍型被高降水所选择。本文对荒漠沙蜥的研究也发现，荒漠沙蜥遗传多样性与降雨量之间的负相关性，但并未达到显著水平。这表明适于干旱环境的沙蜥会被高降雨量所限制，导致其遗传多样性下降。

除环境因子的绝对值外，其稳定性亦会对多样性产生重要影响(Huang et al, 2005, 2007)。用于解释群落多样性的气候稳定性学说同样可以用于解释种群的遗传多样性。在稳定环境中选择相对松弛，会有更多的遗传型被保存下来；在波动环境中仅有那些适应环境的遗传型才会被保。由此可以预计物种的遗传多样性会随环境的稳定性增加而上升。Jin & Liu (2008) 发现青海沙蜥的遗传多样性随温度变异系数和降雨变异系数的增加有下降趋势。本文亦发现虽然荒漠沙蜥的遗传多样性与降雨变异系数之间的相关未达到显著水平，但仍表明随降雨变异

系数的增加遗传多样性有下降趋势。

地理因素可能会通过影响环境条件, 如温度和降雨对生物遗传多样性产生影响。青藏高原地区海拔对温度的影响要高于纬度影响, 而经度变异往往伴随着降雨量的改变, 故 Jin & Liu (2008)认为对青海沙蜥遗传多样性有影响的海拔与经度可能是通过影响气温或降雨来起作用的。本文发现, 荒漠沙蜥遗传多样性随纬度增加有下降的趋势。Pearson 相关分析表明，纬度对降雨量和降雨变异系数有显著影响而对温度无显著影响, 具体表现为随纬度升高降雨量减少而降雨量变异系数增加。由此可见, 纬度对荒漠沙蜥遗传多样性的影响可能是通过影响降雨而产生作用的。

Pang et al (2003)对沙蜥属物种线粒体数据的分析表明, 变色沙蜥、草原沙蜥和荒漠沙蜥聚成支持率较高的一支。Wang & Fu (2004)针对该三种进行的研究发现, 它们并未形成相互独立的单系, 而是依据地理分布形成东部、西北和西南三支; 并提出东部支(腾格里沙漠、毛乌素沙漠及其东部)应保留种名 *P. przewalskii*(包含原 *P. frontalis*), 西北支为 *P. versicolor*, 西南部可能是一个新种。Gozdzik & Fu(2009)也通过分子和形态研究证明分布在内蒙东部和蒙古的变色沙蜥和荒漠沙蜥应为一个种。本文所构建的系统树表明, 变色沙蜥(*P. versicolor*)与荒漠沙蜥(*P. przewalskii*)并没有形成相互独立的单系, 说明它们很可能是一个种。系统树中所有单倍型聚类成了三个支持率较高的地理支, 并且 AMOVA 的结果(表 2)显示, 大部分遗传变异都存在于与这三个地理分支相对应的三个地理群组之间, 而且地理群组间的遗传分化极显著, 结果支持 Wang & Fu(2004)的分类结论。与 Gozdzik & Fu(2009)不同, 我们的研究表明，3 个分支的分歧是在最近 1 Ma 内发生的, 而非 2～5 Ma 或更久, 这可能与采取的计算方式不同有关。

参考文献:

Bernatchez L, Wilson CC. 1998. Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes[J]. *Mol Ecol,* **7**(4): 431-452.

Bruna EM, Fisher RN, Case TJ. 1996. Morphological and genetic evolution appear decoupled in Pacific skinks (Squamata: Scincidae: Emoia)[J]. *Proc Biol Sci,* **263**(1371): 681-688.

Gozdzik A, Fu JZ. 2009. Are toad-headed lizards *Phrynocephalus przewalskii* and *P. frontalis* (family agamidae) the same species? Defining species boundaries with morphological and molecular data[J]. *Russian J Herpetol,* **16**(2): 107-118.

Harvey PH, Read AF, Nee S. 1995. Why ecologists need to be phylogenetically challenged[J]. *J Ecol,* **83**(3): 535-536.

Hey J. 2001. The mind of the species problem[J]. *Trends Ecol Evol,* **16**(7): 326-329.

Huang ZH, Liu NF, Luo SX, Long J, Xiao YA. 2007. Ecological genetics of rusty-necklaced partridge (*Alectoris magna*): Environmental factors and population genetic variability correlations[J]. *Korean J Genet,* **29**(2): 115-120.

Huang ZH, Liu NF, Zhou T, Ju B. 2005. Effects of environmental factors on the population genetic structure in chukar partridge (*Alectoris chukar*)[J]. *J Arid Environ,* **62**(3): 427-434.

Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees[J]. *Bioinformatics,* **17**(8): 754-755.

Jin YT, Brown RP, Liu NF. 2008. Cladogenesis and phylogeography of the lizard *Phrynocephalus vlangalii* (Agamidae) on the Tibetan plateau[J]. *Mol Ecol,* **17**(8): 1971-1982.

Jin YT, Liu NF. 2008. Ecological genetics of *Phrynocephalus vlangalii* on the North Tibetan (Qinghai) Plateau: Correlation between environmental factors and population genetic variability[J]. *Biochem Genet,* **46**(9-10): 598-604.

Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics,* **25**(11): 1451-1452.

Macey JR, Schulte JA. 1998. Phylogenetic relationships of toads in the *Bufo bufo* species group from the eastern escarpment of the Tibetan Plateau: A case of vicariance and dispersal[J]. *Mol Phylogenet Evol,* **9**(1): 80-87.

Merrell DJ. 1981. Ecological Genetics[M]. Minneapolis: University of Minnesota Press.

Nevo E. 1981. Genetic variation and climatic selection in the Lizard *Agama stellio* in Israel and Sinai[J]. *Theor Appl Genet,* **60**(6): 369-380.

Noy-Meir I. 1973. Desert ecosystems: environment and producers[J]. *Annu Rev Ecol Syst,* **4**(1): 25-51.

Nylander JAA. 2004. MrModeltest Version 2. 0. Program Distributed by the Author[M]. Uppsala: Evolutionary Biology Centre, Uppsala University

Pang JF, Wang YZ, Zhong Y, Hoelzel AR, Papenfuss TJ, Zeng XM, Ananjeva NB, Zhang YP. 2003. A phylogeny of Chinese species in the genus *Phrynocephalus* (Agamidae) inferred from mitochondrial DNA sequences[J]. *Mol Phylogenet Evol,* **27**(3): 398-409.

Randi E, Alkon PU. 1994. Genetic structure of Chukar (*Alectoris chukar*) populations in Israel[J]. *Auk,* **111**(2): 416-426.

Sambrook J, Russell DW. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual[M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. *Nucleic Acids Res,* **25**(24): 4876-4882.

Wang YZ, Fu JZ. 2004. Cladogenesis and vicariance patterns in the toad-headed lizard Phrynocephalus versicolor species complex[J]. *Copeia,* **2004**(2): 199-206.

Wang YZ, Wang HZ. 1993. Geographic variation and diversity in three species of Phrynocephalus in the Tengger Desert, western China[J]. *Asia Herpetol Res,* **5**: 65-73.

Zhao EM, Zhao KT, Zhou KY. 1999. Fauna Sinica: Reptilia[M]. Beijing: Science Press, 237-258. [赵尔宓, 赵肯堂, 周开亚. 1999. 中国动物志: 爬行纲[M]. 北京: 科学出版社, 237-258.]

Zhao KT. 1979. A survey of the classilication and distribution of the toad-headed Agamids (Pnrynocephalus) in China[J]. *Acta Sci Nat Univ Neimongol,* (2): 111-121.[赵肯堂. 1979. 中国沙蜥属的分类和分布研究[J]. 内蒙古大学学报: 自然科学版, (2): 111-121.]